

## **Diversidade funcional e atividade de microrganismos solubilizadores de P na rizosfera de linhagens recombinantes de sorgo**

Amanda A. O. Neves<sup>1</sup>, Ivanildo E. Marriel<sup>2</sup> e Robert E. Schaffert<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900. Jaboticabal-SP.

<sup>2</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 KM 45, CP. 285, CEP 35701-970, Sete Lagoas-MG. e-mail: imarriel@cnpms.embrapa.br

Palavras-chave: biossolubilização, comunidade microbiana, biomineralização, fitato, fosfatase.

### **Introdução**

Um dos fatores limitantes da expansão agrícola no bioma cerrado são solos ácidos, caracterizados por possuir baixa fertilidade, toxidez de alumínio, baixa biodiversidade e principalmente baixa disponibilidade de fósforo. Comparado aos outros macronutrientes, o fósforo (P) é o nutriente menos móvel no solo, sendo sua deficiência no solo de cerrado um fator limitante para o crescimento das plantas.

A aquisição de fósforo é primordial para o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais, desempenhando importantes papéis em funções fisiológicas básicas, como formação de ácidos nucleicos, fosfolipídios, metabolismo energético, ativação de metabolismo intermediário e regulação enzimática.

Para garantir a sobrevivência em solos com baixas concentrações de P, as plantas desenvolveram diversos mecanismos de adaptação, como modificações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, na anatomia da raiz, acúmulo de pigmentos de antocianina, secreção de fosfomonoesterases e ácidos orgânicos na rizosfera. A assimilação, o armazenamento e o metabolismo do P são processos altamente regulados que afetam diretamente o crescimento, desenvolvimento e, conseqüentemente, a produção da planta. A disponibilidade de P para as plantas, dentre outros fatores, depende da atividade de microrganismos presentes na rizosfera e da estratégia desenvolvida pelas plantas para adquirir o P. Inúmeros microrganismos edáficos apresentam capacidade de solubilizar fosfatos existentes no solo ou adicionados na forma de fertilizantes (WHITELAW, 2000; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A eficiência do uso de nutrientes pelas plantas envolve a integração de fatores como solo, planta e microrganismos.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade funcional e atividade de microrganismos solubilizadores de P em amostras de solo provenientes de rizosfera de sete Linhagens Recombinantes de Sorgo (RILs) em dois níveis de P, em solo de cerrado.

### **Material e Métodos**

Amostras de solo foram coletadas em um Latossolo Vermelho Distroférico (LVdf), fase cerrado, na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG. Para análises de diversidade funcional e atividade enzimática, retiraram-se amostras de um solo rizosférico de Linhagens Recombinantes de Sorgo provenientes do cruzamento dos parentais BR 007B (sensível ao alumínio e responsivo a P) e SC 283 (tolerante ao alumínio e eficiente a P) do programa de melhoramento da referida instituição. As RILs foram dispostas em 14



tratamentos (7 RILs e 2 níveis de P). O delineamento experimental utilizado foi delineamento de blocos incompletos com três repetições. Foram avaliadas as RILs: RIL 80, RIL 305, RIL 310, RIL 377, RIL 422, RIL 442 e RIL 461, em dois níveis de P (alto P, 20 ppm, AP e baixo P, 5 ppm, BP). Foram feitas contagens de células viáveis de grupos totais e funcionais de microrganismos. A densidade de fungos, actinomicetos e bactérias foi estimada pelo método de inoculação de suspensões diluídas de solo em solução salina (NaCl, 0,85%), em meios de cultura apropriados para identificação de microrganismos solubilizadores de P. Os resultados foram expressos como logaritmo de unidades formadoras de colônias por grama de solo (log UFC / g solo). Foram utilizadas suspensões diluídas do solo ( $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ ) para inocular os meios de cultura sólido de fitato (RICHARDSON et al., 2001; ) e Pikovskaya, (PIKOVSKAYA, 1948), para contagem dos grupos funcionais. A medida da atividade enzimática, expressa em  $\mu\text{g}$  nitrofenol (NP mL  $\text{g}^{-1}$ ), foi feita através da determinação da atividade da fosfatase ácida e alcalina, (adaptado de FREITAS et al., 1997; TABATABAI; BREMMER, 1969).

## Resultados e Discussão

Foram quantificados microrganismos (actinomicetos, fungos e bactérias) biossolubilizadores de fósforo nos meios de cultura específicos Pikovskaya e fitato com as fontes P-Ca e Na-IHP, respectivamente (Figuras 1 e 2).

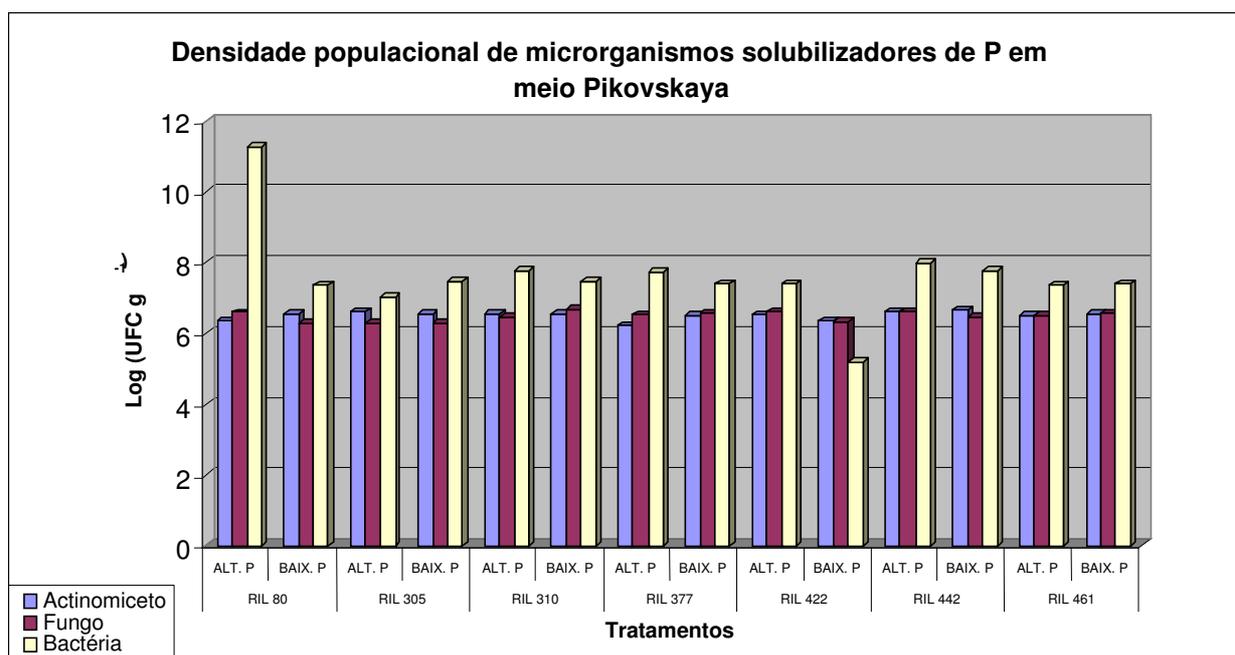


Figura 1. Densidade populacional de microrganismos solubilizadores de P obtidos através de amostras de solo rizosférico de RILs de sorgo em dois níveis de P (alto e baixo P) em meio Pikovskaya. Valores médios de três repetições.



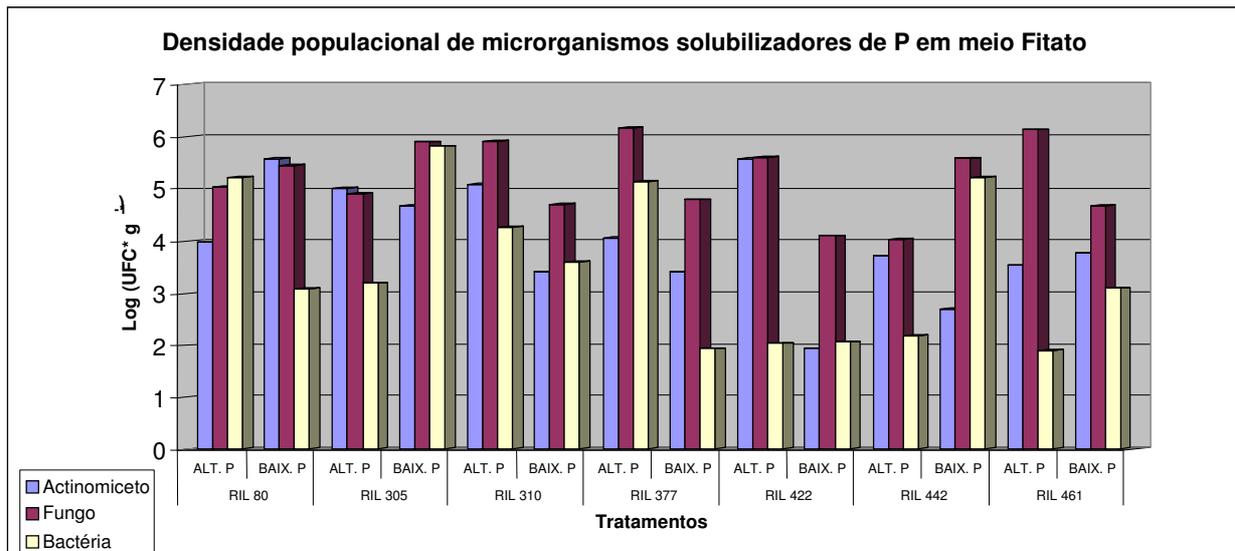


Figura 2. Densidade populacional de microrganismos solubilizadores de P obtidos através de amostras de solo rizosférico de RILs de sorgo em dois níveis de P (alto e baixo P) em meio Fitato . Valores médios de três repetições.

O teor de P no solo não influenciou a densidade populacional de actinomicetos, fungos e bactérias nos referidos meios. Foram detectadas diferenças significativas entre as RILs para a variável analisada densidade populacional de bactérias no meio de cultura Pikovskaya (Probabilidade = 0.0284). A maior densidade populacional de bactérias foi observada na presença da RIL 80, em alto P, e menor densidade na da RIL 422, em baixo P, sendo os valores 11,0 e 5,0 log UFC g<sup>-1</sup> solo, respectivamente (Figura 1).

Para o meio de cultura Fitato detectaram-se diferenças significativas entre as RILs para a densidade populacional de actinomicetos (Probabilidade = 0.0195). Não houve diferença para fungos e bactérias. As amostras das RILs 80 (baixo P) e RILs 422 (alto P) apresentaram valores mais elevados, 5,77, 5,69 log UFC g<sup>-1</sup> solo, respectivamente, para a densidade populacional de actinomicetos (Figura 2).

Posteriormente, com base em características fenotípicas, 46 colônias de microrganismos foram selecionadas (sendo estas divididas em 11, 22 e 13 colônias de actinomicetos, fungos e bactérias, respectivamente), reavaliadas quanto à pureza e preservadas em ágar-batata inclinado. Para a atividade da fosfatase ácida nas amostras de solo (Figura 3), houve variação ( $p < 0,05$ ) entre as RILs de 43,17  $\mu\text{g NP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (RIL 310 BP) a 52,39  $\mu\text{g NP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (RIL 422 BP). A RIL 305 (tolerante ao alumínio) apresentou o maior valor médio da atividade da fosfatase alcalina (Figura 4) com alto suprimento de P (279,25  $\mu\text{g NP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), sendo que o menor valor observado foi de 166,98  $\mu\text{g NP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$  para a RIL 310 AP.



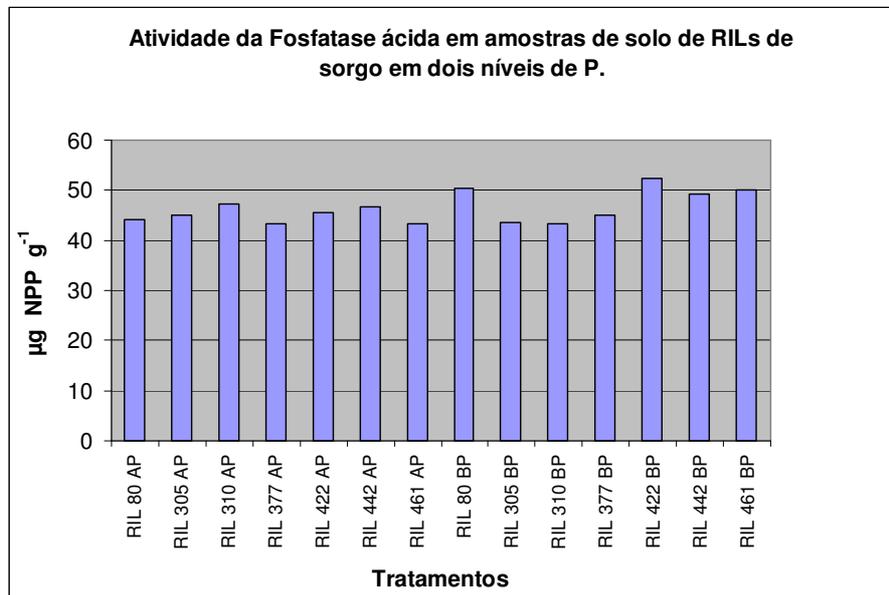


Figura 3. Atividade da fosfatase ácida ( $\mu\text{g NP mL g}^{-1}$ ) em amostras de solo rizosférico de RILs de sorgo em dois níveis de P (alto e baixo P). Valores médios de três repetições.

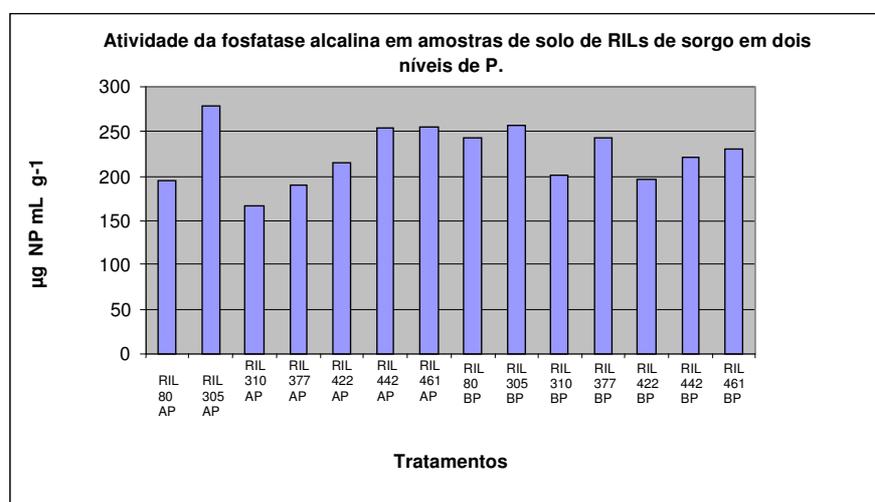


Figura 4. Atividade da fosfatase alcalina ( $\mu\text{g NP mL g}^{-1}$ ) em amostras de solo rizosférico de RILs de sorgo em dois níveis de P (alto e baixo P). Valores médios de três repetições.

Oliveira et al. (2009), em estudos com microrganismos componentes de cultivares de milho contrastantes na eficiência de uso do P, encontraram maior densidade de células viáveis e maior taxa de solubilização entre bactérias e actinomicetos para o meio Pikovskaya (fosfato tricálcio). Estes microrganismos têm sido citados na literatura como importantes promotores de crescimento de plantas. Para o meio Fitato, foi ressaltado pelos mesmos autores destaque para os fungos, sendo este grupo de microrganismos os maiores solubilizadores deste ambiente. Neste caso, a atividade de ácidos orgânicos liberados por microrganismos teve indicação em importantes mecanismos de solubilização das fontes de P dos respectivos meios.

Silva et al. (2010), avaliando a eficiência e diversidade molecular de fungos e bactérias mineralizadores de fitato isolados da rizosfera de linhagens de milho, verificaram que os fungos isolados apresentaram um maior potencial em mineralizar o fitato presente no meio de cultivo, quando comparados às bactérias. Freitas et al. (1997) testaram sete estirpes de bactérias e encontraram baixos níveis de atividade da fosfatase ácida e níveis mais elevados para a atividade da fosfatase alcalina em meios de cultura contendo fontes de fósforo insolúveis, corroborando os resultados encontrados no presente trabalho.



## Conclusões

A rizosfera de RILs de sorgo é colonizada por microrganismos com atividade mineralizadora de fosfato tricálcio e fitato de sódio.

A solubilização de P e os mecanismos envolvidos dependem da natureza da sua fonte e do tipo de organismo.

O efeito do suprimento P no solo sobre a composição da comunidade bacteriana da rizosfera de RILs de sorgo pode ser detectado usando-se técnicas de avaliação da diversidade funcional e populacional.

## Agradecimentos

À Macknigh Foundation e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

## Referências

FREITAS, J. R.; BANERJEE, M. R.; GERMIDA, J. J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 358-364, 1997.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. atual. ampl. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, n. 9, p. 1782-1787, 2009.

PIKOVSKAYA, R. J. Mobilization of phosphorous in soil in connection with vital activity of some microbial species. **Mikrobiologiya**, New York, v.17, p. 362-370, 1948.

RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A.; HAYES, J. E.; O'HARA, C. P.; SIMPSON, R. J. Utilization of phosphorus and pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil microorganisms. **Plant and Soil**, The Hague, v. 229, p. 47-56, 2001.

SILVA, P. G.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; PORTILHO, N. C.; CARNEIRO, A. A. Caracterização molecular de microrganismos mineralizadores de fitato isolados da rizosfera de milho no Cerrado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, 2010. No prelo.

TABATABAI, M. A.; BREMMER, J. M. Use of pNitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 1, p. 301-307, 1969.

WHITELAW, M. A. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. **Advances in Agronomy**, New York, v. 69, p. 99-151, 2000.

